

**Experimentelle Untersuchungen von
frischen und abgetöteten Knochentransplantaten
bei der Ratte unter Verwendung von ^{85}Sr**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Herbert Landthaler

aus

Wiesensteig

D 29

1972

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der
Universität Erlangen-Nürnberg.

Dekan: Professor Dr.Dr. Pauly
Referent: Professor Dr. Hohmann
Tag der mündlichen Prüfung: 4.8.1972

Vergleichende experimentelle Untersuchungen an frischem und abgetötetem Knochenmaterial bei der Ratte unter Verwendung von ^{85}Sr

G. WESELOH, H. LANDTHALER und F. KLOPPER

Orthopädische Universitätsklinik Erlangen (Direktor: Prof. Dr. med. D. Hohmann)

Eingegangen am 5. April 1971



Summary. Comparing studies on autologous fresh and devitalized bone grafts are reported here. Longitudinal dissected halves of rat-femora with and without periosteum were implanted into the paravertebral muscles. 1—4 weeks after operation and 1 hr after injection of the ^{85}Sr -isotope, the radiation was measured out by a scintillation-counter. Fresh bone material had a preponderant uptake of ^{85}Sr , the difference pointed out more clearly at grafts with periosteum.

Zusammenfassung. Es wird über vergleichende Untersuchungen an autologen, frischen und abgetöteten Knochenspänen berichtet. Bei Ratten wurden periostgedeckte und periostlose Femurspäne in die Rückenmuskulatur implantiert. Nach 1—4 Wochen postoperativ und 1 Std nach ^{85}Sr -Applikation erfolgte die Aktivitätsmessung im Szintillationszähler. Frisches Knochenmaterial lagerte überwiegend mehr ^{85}Sr ein, wobei der Unterschied bei den periostgedeckten Spänen eindeutiger war.

Das biologische Verhalten des Periostes bei transplantierten Knochenspänen wird in der Literatur unterschiedlich beurteilt. In einer vorhergehenden Veröffentlichung (Weseloh et al.) sind wir auf diese Problematik näher eingegangen. Weitere Untersuchungen sollen zur Klärung dieser Frage beitragen.

Eine Reihe von Autoren hat vergleichende Untersuchungen an frischen und abgetöteten Knochenspänen durchgeführt (Axhausen, W.; Blaimont; Brode; Lacroix; Röhlich; Williams; Urist u. McLean; u. a.).

Die Abtötung der Knochenspäne kann auf verschiedene Weise durchgeführt werden:

Kochen der Späne (Blaimont, 1960; Dorr et al., 1961; Williams, 1964; Urist u. McLean, 1952; u. a.); Ausglühen der Späne (Burwell, 1966; Wurm, 1930); Abtöten der Späne durch Einfrieren (Axhausen, W., 1952; de Bruyn, 1955; Kingma u. Hampe, 1964; Krüger u. Lösch, 1964; Ray et al., 1952; u. a.); Gefriertrocknen (Burwell, 1966; Stadnicki u. Baranczak, 1967); Alkohol- oder Formalin-Behandlung (Axhausen, W., 1950; Betzel, 1956; Lacroix, 1951) oder Decalcifizierung und Deproteinisierung (Burwell, 1966; Freiberg u. Ray, 1964; Ray u. Holloway, 1957).

Die genannten Autoren führten ausschließlich histologisch-morphologische Untersuchungen durch. Unter Anwendung radioaktiver Substanzen eröffnen sich Möglichkeiten, weitere Aufschlüsse zu erhalten. Über Untersuchungen mit Radioisotopen bei frischem und abgetötetem Knochenmaterial berichten Gong et al., Kiehn et al., Odell et al., Ray et al., Salomon u. Ray, Stevens, u. a. Die in diesen Veröffentlichungen wiedergegebenen Ergebnisse basieren auf unterschiedlichen Versuchsanordnungen mit verschiedenen Tierspecies (meist wachsenden Tieren)

unter Verwendung mehrerer radioaktiver Substanzen. In der Fortsetzung unserer früheren Untersuchungen erschienen Versuche mit vitalem und abgetötetem Knochenmaterial angezeigt, wobei sich unter Beibehaltung der Versuchsanordnung eine vergleichende Beurteilung der Ergebnisse anbot.

Material und Methode

Wir haben wieder, wie in unserem vorhergehenden Versuch, 24 erwachsene, männliche Wistar-Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 390 g verwandt und alle Tiere ausgewertet. Es wurden 2 Gruppen mit je 12 Tieren gebildet, in der ersten Gruppe periostgedecktes, in der zweiten periostloses Knochenmaterial verwandt. Wir entnahmen einen Femurschaftcylinder und erhielten nach Längsspalten zwei nahezu gleich große Knochenhälften.

Ein Span wurde frisch belassen, der andere durch einstündiges Einbringen in einen Autoclaven bei 120°C abgetötet. Die Späne implantierten wir dann in die Rückenmuskulatur desselben Tieres für die Dauer von 1, 2, 3 bzw. 4 Wochen (bei jeweils 6 Tieren). Immer erfolgte die Untersuchung der Späne 1 Std nach Applikation des Isotops. Wir verwandten wiederum ^{85}Sr . Jedem Tier wurde dabei $\frac{1}{16} \mu\text{Ci } ^{85}\text{Sr}$ pro Gramm Körpergewicht, auf 1 cm³ mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, i.p. injiziert. Die Aktivitätsmessung an den Spänen führten wir mit einem Szintillationszähler durch.

Die Aufnahme des injizierten Isotops wurde durch Aktivitätsmessungen des Serums kontrolliert.

Ergebnisse

In Übereinstimmung mit unseren früheren Untersuchungen ergab sich allgemein eine vermehrte Anreicherung des Isotops in den frischen periostgedeckten im Vergleich zu den frischen periostlosen Knochenspänen.

Die weitere Auswertung der Befunde läßt in der ersten Gruppe bei Verwendung periostgedeckter Späne einen eindeutig höheren uptake des Isotops im frischen gegenüber dem abgetöteten Material erkennen. Dabei fällt, wie aus der Abb. 1 ersichtlich, ein kontinuierlich zunehmender Anstieg der Mehranreicherung in den frischen Spänen zwischen der 1. und 4. Woche nach Implantation auf. In der 3. und 4. Woche ergibt sich ein signifikanter Unterschied. Dagegen zeigen die abgetöteten Späne eine praktisch gleichbleibende Anreicherung über den gesamten Verlauf.

Die periostlosen Knochenspäne bieten dagegen nicht dieses eindeutige Ergebnis. Hier zeigen zwar ebenfalls die frischen Späne die größere Strontiumaktivität, in der 1. Versuchswoche ist aber der Sr-uptake in den abgetöteten Implantaten höher und in der 4. Woche praktisch gleichwertig (Abb. 2).

Die Anreicherung in den gekochten Spänen verläuft hier nicht so gleichmäßig wie in der ersten Gruppe, die Schwankungsbreite ist jedoch nur sehr gering (Abb. 1 u. 2).

Diese Ergebnisse sind auch in den Abb. 3 und 4 graphisch dargestellt. Dabei kommt in der Abb. 3 noch einmal der deutlich zunehmende uptake in den frischen, periostgedeckten Transplantaten zum Ausdruck, ebenso wie die annähernd gleichbleibende Anreicherungsrate in den gekochten Spänen.

Die Abb. 4 zeigt die Ergebnisse in der zweiten Gruppe mit periostlosem Material und läßt die deutliche Anreicherungs Zunahme des Isotops bei frischen Spänen in der 2. Woche und den nachfolgenden mäßigen Abfall in der 3. und 4. Woche erkennen. Hier stellt sich auch die mäßige Schwankungsbreite in den gekochten Implantaten dar.

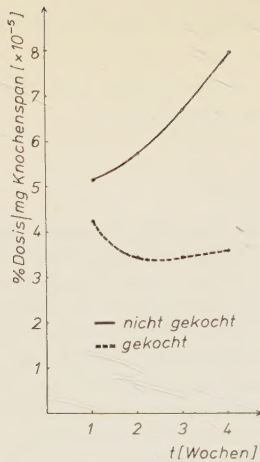


Abb. 1

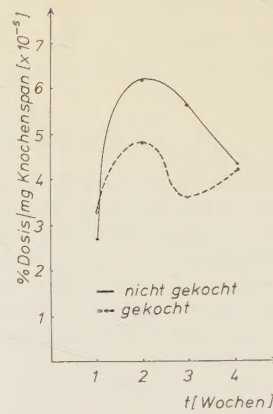


Abb. 2

Abb. 1. ^{85}Sr -Aufnahme bei periostgedeckten (gekochten und nichtgekochten) Knochenspänen 1 Std nach Isotopenapplikation (Prozentdosis/mg Span $\times 10^{-5}$)

Abb. 2. ^{85}Sr -Aufnahme bei periostlosen (gekochten und nichtgekochten) Knochenspänen 1 Std nach Isotopenapplikation (Prozentdosis/mg Span $\times 10^{-5}$)

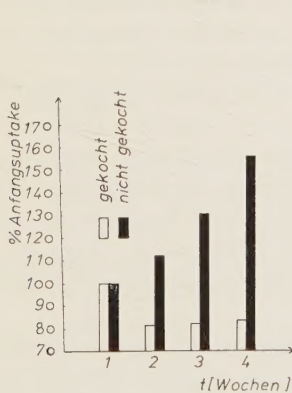


Abb. 3

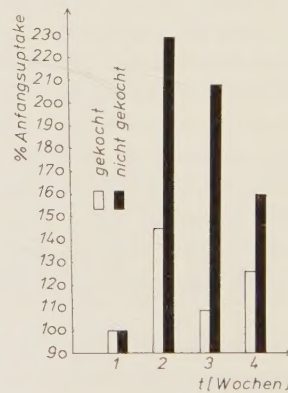


Abb. 4

Abb. 3. Verhältnis der Anreicherungsquoten in der 1. bis 4. Woche bei periostgedeckten (gekochten und nichtgekochten) Spänen; die ^{85}Sr -Aufnahme in der 1. Woche wird jeweils mit 100% angegeben

Abb. 4. Verhältnis der Anreicherungsquoten in der 1. bis 4. Woche bei periostlosen (gekochten und nichtgekochten) Spänen; die ^{85}Sr -Aufnahme in der 1. Woche wird jeweils mit 100% angegeben

Die weitere Auswertung der Ergebnisse ergibt in der ersten Gruppe (periostgedeckte Späne) einen Sr-uptake in den abgetöteten Knochen von 82,4% des lebenden Knochens in der 1. Woche, von 60,1% in der 2. Woche, von 57,7% in der 3. und 44,9% in der 4. Woche. Für die zweite Gruppe (periostlose Späne) ergeben sich folgende Werte: 1. Woche 122,2%, 2. Woche 77,4%, 3. Woche 63,8%, 4. Woche 96,9%.

Insgesamt läßt sich für beide Gruppen ein Wert von durchschnittlich 75% errechnen. Die Aktivitätsmessungen des Serums ergeben in beiden Gruppen, von geringen Schwankungen abgesehen, einen Wert von 0,35 Prozentdosis/ml Serum $\times 10^{-1}$.

Diskussion

Die Untersuchungen bestätigen im allgemeinen die Ergebnisse unserer früheren Arbeit. Die periostgedeckten Späne zeigen eine höhere Sr-Aktivität als die periostlosen. Allerdings muß dabei berücksichtigt werden, daß bei diesem Versuch periostlose und periostgedeckte Späne nicht demselben Tier implantiert wurden, also eine Vergleichsmöglichkeit nur bedingt gegeben ist. Die vermehrte Aktivität in den periostgedeckten Spänen wird auch bei den weiterhin gewonnenen Ergebnissen beobachtet. Eindeutig läßt sich eine Mehranreicherung im periostgedeckten Material im Vergleich zu den abgetöteten Spänen erkennen, während dies bei den periostlosen nicht so deutlich zum Ausdruck kommt. Diese Tatsache unterstützt wiederum die Hypothese einer aktiven Beteiligung des Periostes an biologischen Vorgängen im implantierten Knochen. Besonders wird die Mehranreicherung in periostgedeckten frischen Spänen gegenüber periostlosen in den Abb. 1 und 2 dargestellt. Das abgetötete Material lagert vergleichsweise eindeutig weniger ^{85}Sr ein. Der kontinuierlich ansteigende uptake des periostgedeckten lebenden Knochens (Abb. 1) läßt sich möglicherweise im Sinne einer dem Periost zuzuschreibenden osteogenetischen Aktivität interpretieren. Die Vaskularisierung des implantierten Knochens spielt sicherlich bei der Sr-Anreicherung eine bestimmende Rolle, wobei hier das belassene Periost einen gewissen Einfluß besitzen kann.

Der Vaskularisierung implantierter Knochen für die Osteogenese wird von Ham u. Gordon (1952), Kingma u. Hampe (1964), Zucman et al. (1968), Stringa (1957) u. a. eine wichtige Rolle zugemessen. Kingma u. Hampe weisen bei autologen und homologen Spänen eine Revaskularisierung nach, die bei autologen Spänen nach 2 Wochen vollständig ist. Sie kann eine Erklärung bzw. Bestätigung für den von uns beobachteten Aktivitätsverlauf ergeben. Zucman et al. beobachten eine aktive osteogenetische Tätigkeit des Periostes im Zusammenhang mit Vaskularisierungsvorgängen. Dieses Ergebnis erlaubt gewisse Rückschlüsse auf die von uns diskutierte Periostaktivität. Die von uns bei den abgetöteten Knochenimplantaten gefundenen Sr-Konzentrationen von durchschnittlich 75% des frischen Knochenspanes entsprechen den von einigen anderen Autoren angegebenen Werten. Ray (1955) gibt eine ^{90}Sr -Anreicherung des abgetöteten Implantates bei Ratten mit 45—77%, im Durchschnitt mit 70% an. Gong beschreibt bei Hunden eine ^{85}Sr -Konzentration in abgetöteten Transplantaten von 85% bei trabeculären Knochen. Eine größere Sr-Einlagerung findet er bei abgetötetem corticalem Knochen mit etwa 120% gegenüber lebendem Knochenmaterial. Diese Mehranreicherung, wie sie in unseren Untersuchungen bei periostlosen Spänen in der 1. Woche post op. mit 122,2% zu verzeichnen war, interpretiert Gong mit verstärktem Einwachsen von Gefäßen. Dagegen findet Stevens bei 35 Tage alten Ratten deutlich niedrigere Werte. Der Autor gibt die ^{45}Ca -Einlagerung in toten Implantaten mit durchschnittlich 25% des uptake im lebenden Knochen an. Dieser Gegensatz erklärt sich nach Ray in einer größeren Differenz der Radio-

isotopenaufnahme zwischen lebendem und abgetötetem Knochen bei jungen, wachsenden und ausgewachsenen Tieren. Jedoch vergleichen alle angeführten Autoren abgetötete Implantate mit am Ort belassenem Knochen. Dagegen liefern unsere Werte die Verhältnisse der ^{85}Sr -Anreicherung in abgetötetem und frischem *transplantiertem* Knochen, also unter vergleichbaren Bedingungen. Es kann also dabei von gleichwertigen Vaskularisierungsbedingungen ausgegangen werden.

Literatur

- Axhausen, W.: Experimentelle Untersuchungen zur Theorie der „induzierten“ Knochenneubildung (Levander). *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **266**, 381—398 (1950).
- Die Knochenregeneration — ein zweiphasisches Geschehen! *Zbl. Chir.* **77**, 435—442 (1952).
- Betzel, F.: Das Schicksal von Knochen neugeborener Hunde nach Verpflanzung in Weichteil-lager. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **283**, 484 (1956).
- Blaimont, P.: Contribution expérimentale à l'étude des greffes osseuses bouillies. *Acta chir. belg.* **59**, 871—885 (1960).
- Burwell, R. G.: Studies in the transplantation of bone. VIII. Treated composite homograft-autografts of cancellous bone: An analysis of inductive mechanisms in bone transplan-tation. *J. Bone Jt Surg.* **48-B**, 532—566 (1966).
- De Bruyn, P. P. H., Kabisch, W. T.: Bone formation by fresh and frozen, autogenous and homogenous transplants of bone, bone marrow and periosteum. *Amer. J. Anat.* **96**, 375 (1955).
- Dorr, A. D., Moloney, W. C., Dowd, G., Boschetti, A. E.: Bone and marrow transplants in the rat. *Blood* **18**, 423—430 (1961).
- Freiberg, R. A., Ray, A. D.: Studies of devitalized bone implants. *Arch. Surg.* **89**, 417—427 (1964).
- Gong, J. K., Burgess, E., Bacalao, P.: Accretion and exchange of strontium-85 in trabecular and cortical bones. *Radiat. Res.* **28**, 753—765 (1966).
- Ham, A., Gordon, S.: The origin of bone that forms in association with cancellous chips trans-planted into muscle. *Brit. J. plast. Surg.* **5**, 154—160 (1952).
- Kiehn, C. L., Friedell, H. L., MacIntyre, W. J.: Study of the vitality of tissue transplants by means of radioactive phosphorus. *Plast. reconstr. Surg.* **3**, 335—339 (1948).
- Kingma, M. J., Hampe, J. F.: The behaviour of blood vessels after experimental transplanta-tion of bone. *J. Bone Jt Surg.* **46-B**, 141—150 (1964).
- Krüger, E., Lösch, G.: Zur Frage der Bedeutung überlebender Zellen in autoplastischen Knochentransplantaten für die Osteogenese. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **306**, 78—86 (1964).
- Lacroix, P.: The organization of bones. Translated by Stewart Gilder. Philadelphia: Blakiston Co. 1951.
- Odell, R. T., Mueller, C. B., Key, J. A.: Effect on bone grafts of radio-active isotopes of phosphorus. *J. Bone Jt Surg.* **33-A**, 324—332 (1951).
- Ray, R. D., Degge, J., Gloyd, P., Mooney, G.: Bone regeneration. An experimental study of bone-grafting materials. *J. Bone Jt Surg.* **34-A**, 638—647 (1952).
- Holloway, J. A.: Bone implants. Preliminary report of an experimental study. *J. Bone Jt Surg.* **39-A**, 1119—1128 (1957).
- La Violette, D., Buckley, H. D., Mosiman, R. S.: Studies on bone metabolism. I. A com-parison of the metabolism of Strontium 90 in living and dead bone. *J. Bone Jt Surg.* **37-A**, 143—155 (1955).
- Stevens, D. J., Lyon, I., Rowland, R. E.: Uptake of Ca-45 and C-14-labelled proline by dead and living bone. In: *Radio-isotopes and Bone* (McLean, F. D., Lacroix, P., and Budy, A. M., eds.), pp. 68—83. Philadelphia: Davis Company 1962.
- Röhlich, K. V.: Bildung neuer Knochensubstanz in abgetöteten Knochentransplantaten. *Z. mikr.-anat. Forsch.* **50**, 132—145 (1941).
- Rohde, C.: Beiträge zur Frage der Metaplasie des Bindegewebes in Knochen. I. Die Einheilungsvorgänge bei der Transplantation ausgekochter Knochenstücke in Weichteile. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **128**, 302—333 (1924).

- Salomon, C. D., Ray, R. D.: The autoradiographic distribution and localization of Ca-45 in undecalcified fresh and devitalized rat bone autografts. *J. Bone Jt Surg.* **48-A**, 1575—1584 (1966).
- Stadnicki, J., Baranczak, Z.: Eine histologische Bewertung von frisch entnommenen, gefrorenen und lyophilisierten, in gewebefremdes Milieu überpflanzten Knochentransplantaten. *Dtsch. zahnärztl. Z.* **22**, 587—590 (1967).
- Stevens, J., Ray, R. D.: An experimental comparison of living and dead bone in rats. 3. Uptake of radioactive isotopes. *J. Bone Jt Surg.* **49-B**, 154—163 (1967).
- Stringa, G.: Studies of the vascularisation of bone grafts. *J. Bone Jt Surg.* **39-B**, 395—420 (1957).
- Urist, M. R., McLean, F. C.: Osteogenetic potency and new-bone formation by induction in transplants to the anterior chamber of the eye. *J. Bone Jt Surg.* **34-A**, 443—476 (1952).
- Williams, G.: Experiences with boiled cadaveric cancellous bone for fractures of long bones. *J. Bone Jt Surg.* **46-B**, 398—403 (1964).
- Wurm, H.: Über heterotope Knochenbildung. *Verh. dtsh. path. Ges.* **25**, 191—195 (1930).
- Zucman, J., Maurer, P., Berbesson, C.: The effect of autografts of bone and periosteum in recent diaphysial fractures. *J. Bone Jt Surg.* **50-B**, 409—422 (1968).

Dr. G. Weseloh
Orthopädische Universitätsklinik
D-8520 Erlangen



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548617_0069

Lebenslauf

Am 24.11.1947 wurde ich, Herbert Hermann Landthaler, in Wiesensteig/Kreis Göppingen als 1. Kind des Zahnarztes Siegfried Landthaler und seiner Ehefrau Thekla, geb. Rhein geboren.

Von 1954 - 1958 besuchte ich die Grundschule in Wiesensteig, von 1958 - 1963 das human. Gymnasium in Rottenburg/Neckar, von 1963 - 1966 das human. Gymnasium in Ehingen/Donau, wo ich am 22.10.1966 das Abitur ablegte.

Vom WS 1966/67 bis zum WS 1971/72 studierte ich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg Humanmedizin. Den naturwissenschaftlichen Abschnitt der ärztlichen Vorprüfung bestand ich am 28.7.1967, die ärztliche Vorprüfung am 29.4.1969, das medizinische Staatsexamen am 31.7.1972.

